Anwendung der chromatographischen Adsorptionsanalyse in der Pharmazie

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

Marguerite Fichter

aus Basel

Zürich 1939

City—Druck AG., Zürich 1, St. Peterstraße 10

Anwendung der chromatographischen Adsorptionsanalyse in der Pharmazie

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

Marguerite Fichter

aus Basel

Zürich 1939

City—Druck AG., Zürich 1, St. Peterstraße 10

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren T. Reichstein und K. Leupin.

Basel, den 27. Juni 1939.

P. Ruggli, Dekan.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Separatabdruck aus Pharmaceutica Acta Helvetiae.
Band 13, Heft 9, 1938; Band 14, Hefte 1 und 7/8, 1939.

Meinen sehr verehrten Lehrern, den Herren

Prof. Dr. *T. Reichstein*

und

Prof. Dr. *H. Erlenmeyer*

möchte ich für die Anregung und das freundliche Interesse, sowie für die überaus wertvolle Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit meinen aufrichtigen Dank sagen.

Meinem Vater zum 70. Geburtstag gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546708_0035

Einleitung.

Von dem Botaniker *Tswett* (45) wurde 1906 eine Methode angegeben, die eine fraktionierte Adsorption von Stoffen aus Lösungen ermöglichte. *M. Tswett* entwickelte seine Methode am Beispiel der Blattfarbstoffe. Neuerdings hat diese Arbeitsweise als «Chromatographische Adsorption» bei der Isolierung von Naturstoffen eine umfangreiche Anwendung gefunden, da es mit ihrer Hilfe gelingt, sowohl äußerst kleine Mengen eines Stoffes zu erfassen, als auch sehr nah verwandte Verbindungen zu trennen.

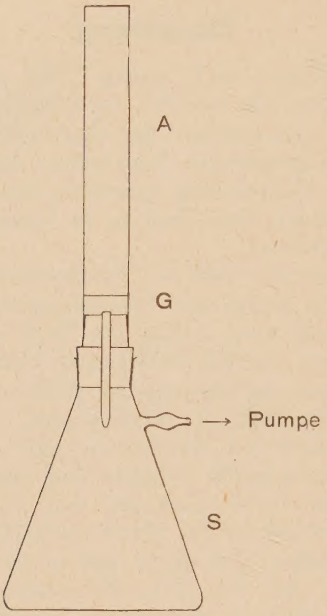
Die Methode beruht darauf, daß ein Stoffgemisch in Lösung beim langsamen Durchlaufen eines mit einem geeigneten Adsorptionsmittel beschickten Glasrohrs in seine Komponenten aufgeteilt wird, indem der Stoff mit der größten spezifischen Adsorptionsaffinität zuoberst, der mit der kleinsten zuunterst adsorbiert wird. Durch diese Aufteilung in Schichten, die entweder im gewöhnlichen oder im Ultra-Violett-Licht durch ihre verschiedene Färbung erkennbar sind, entsteht das Chromatogramm.

Es sind in neuester Zeit von *Zechmeister* und *v. Cholnoky* (37) und von *Winterstein* (38) zusammenfassende Arbeiten über dieses Gebiet herausgekommen, in denen die verschiedenen Arbeitsmethoden und Anwendungsmöglichkeiten eingehend behandelt werden. Auch in der pharmazeutischen Forschung hat die Chromatographie Eingang gefunden. Vor allem sind es die Arbeiten von *Valentin* und Mitarbeitern (39, 40, 41, 42, 43, 59). Er wendet die Methode an, um ganz verschiedene Probleme zu lösen; z. B. wurden Verfälschungen von Rhum, Perubalsam, Safran, Kaffee, Tee untersucht (39, 41, 43, 59) und Chromatogramme verschiedener Extrakte und Tinkturen mitgeteilt (39, 40, 41, 42, 59). *P. Ernst* und Mitarbeiter (44) beschreiben die Chromatogramme von Frangula und anderen Anthrachinondrogen; *Neugebauer* und *Brunner* dehnen die Anwendung der Chromatographie auf die Homöopathie aus (53).

Es erschien nun interessant, diese einfache Methode für die Untersuchung von solchen Drogen und galenischen Präparaten heranzuziehen, deren Zusammensetzung und Wirkung erfahrungsgemäß großen Schwankungen unterworfen sind, oder deren wirksame Komponente noch nicht unbezweifelt ermittelt wurde. Anderseits kann sie als wertvolles Hilfsmittel zur mühelosen Aufdeckung und Aufklärung einiger Verfälschungen dienen. Man kann bei solchen Versuchen einmal hoffen, durch Vergleiche in einfachen chromatographischen Versuchen Anhaltspunkte über den Gehalt und damit über den Wert der Droge zu gewinnen. Sodann wird sich zeigen, ob die beobachteten Schwankungen auf die Art der Zubereitung oder auf die vom Standort und der Sammelzeit abhängige Qualität zurückzuführen sind. In den Fällen, wo Zweifel über die Zahl und die Natur der wirksamen Stoffe bestehen, kann mit der chromatographischen Analyse ein Beitrag zur Charakterisierung dieser Verbindungen erbracht werden. Eine endgültige Lösung des letzteren Problems läßt sich naturgemäß nur im Zusammenhang mit biologischen Versuchen durchführen.

In der vorliegenden ersten Mitteilung soll nur die chromatographische Seite des Problems für die gewählten Beispiele angegeben werden.

Da die Arbeitsweise der chromatographischen Adsorptionsanalyse nicht allgemein bekannt und die einschlägige Literatur (37, 38) nicht allen Apothekern ohne weiteres zugänglich ist, soll hier ganz kurz eine Beschreibung der von mir benutzten Apparatur folgen, zugleich mit der Erklärung der wichtigsten Fachausdrücke.



Eine Saugflasche S wird durch zwei durchbohrte Gummistopfen und ein unten bis zum Seitenrohr der Saugflasche reichendes enges Glasrohr mit einem gewöhnlichen dünnwandigen Glasrohr A verbunden, dessen Länge und Weite je nach den Versuchsbedingungen von 30—60 cm und 16—45 mm variieren. Dieses Adsorptionsrohr wird unten mit einer dichten Schicht Glaswolle G beschickt, darauf wird das Adsorbens trocken eingefüllt und das Rohr mindestens eine halbe Stunde leicht geklopft, um eine gleichmäßig dichte Füllung des Adsorbens zu garantieren. Gleich nach Beginn des Klopfens kann die Wasserstrahlpumpe angeschlossen werden. Um die Gleichmäßigkeit der Füllung nachzuprüfen, werden ca. 20—50 cm^3 von dem für den Versuch zu brauchenden Lösungsmittel langsam durchgesaugt, dann die Lösung des Stoffes (normalerweise ca. 1—2-proz.) sorgfältig aufgegossen und so durchgesaugt, daß pro Minute 30—60 Tropfen durchgehen. Nach der Adsorption wird das Bild = Chromatogramm mit einem geeigneten Lösungsmittel entwickelt, d. h. die einzelnen Zonen wenn möglich noch etwas auseinandergezogen und schärfer getrennt. Nun wird entweder, wenn man einfach das Chromatogramm als Charakteristikum verwendet, die Säule im diffusen Tageslicht und im Ultra-Violett-Licht (Quecksilberlampe, Hanau) betrachtet, die Lage und Farbe der Zonen notiert, oder, wenn man die einzelnen

Komponenten trennen und rein darstellen will, die Säule herausgenommen, die Zonen voneinander geschnitten und eluiert, d. h. mit einem geeigneten Lösungsmittel aus dem Adsorbens herausgezogen.

Als Adsorptionsmittel kommen für pharmazeutische Zwecke hauptsächlich in Betracht: Aluminium oxydatum anhydricum purissimum, *Merck* [1]), als solches und aktiviert nach *Ruggli* und *Jensen* (46). In Spezialfällen, wenn Al_2O_3 nicht zum Ziel führte, versuchte ich es auch mit anderen Adsorbentien, z. B. Gips und $Ca(OH)_2$.

Zur Begutachtung im Ultra-Violett-Licht genügen Rohre aus gewöhnlichem dünnem Geräteglas; die schwache Eigenfluoreszenz des Glases stört ebensowenig wie die des Al_2O_3.

Extractum Filicis.

Mit Extractum Filicis Ph. H. V (= E-V) wurden nach Angaben von Herrn Dr. *Gfeller* im Basler Bürgerspital schlechte Erfahrungen gemacht. Nur in wenigen Fällen gelang es mit diesem Extrakt, die Bandwürmer samt dem Kopf zu entfernen, während bei der Verabreichung von Extractum Filicis Ph. H. IV (= E-IV) fast durchwegs gute Erfolge erzielt wurden. Dasselbe Versagen dieses Ph. H. V-Präparates wurde auch von Herrn *Alther*, St. Gallen [2]) und von verschiedenen Basler Aerzten beobachtet. Diese Bestätigung der Beobachtung von ganz verschiedener Seite ist umso wertvoller, als damit die Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei diesem Versagen nur um ein minderwertiges Handelsprodukt einer an und für sich guten Ph-Vorschrift handelte, wesentlich verkleinert, wenn auch nicht ganz ausgeschlossen wird. Auf weitere mögliche Beobachtungsfehler wird später noch eingegangen.

Filix ist eine uralte Droge, über deren wirksame Bestandteile trotz vieler Arbeiten noch recht wenig Sicheres bekannt ist. Um die Jahrhundertwende waren es hauptsächlich die Arbeiten von *Poulsson* (2), *Böhm* (3), *Kraft* (5), *Jaquet* (4), *Hausmann* (6) und *Katz* (1), die zur Auffindung einer Reihe chemisch mehr oder weniger wohl definierter Körper und zur Entdeckung des Filmarons führten (5). Außer diesem sind zu nennen: Filicin (Filixsäure), Flavaspidsäure, Albaspidin, Aspidinol, Phloraspin (Flavaspidinin) und Filixnigrine (8). Es finden sich dort eingehende Erörterungen der Konstitution mit Aufstellung komplizierter Formelbilder, die jedoch bis auf Aspidinol, dessen Konstitution *Karrer* (7), und Filicinsäure, deren Konstitution *Robertson* und *Sandrock* (32) durch Synthese bestätigt haben, als unbewiesen anzusehen sein dürften.

Auf der Entdeckung des Filmarons basieren die gravimetrischen Wertbestimmungen der verschiedenen Arzneibücher, die alle im Prinzip auf folgender Methode beruhen: Der Extrakt wird in Aether aufgenommen, daraus mit Barytwasser die organischen Säuren als Bariumsalze gelöst und abgetrennt; hierauf werden die Säuren mit Salzsäure wieder frei gemacht, in Aether ausgeschüttelt, der Aether abdestilliert und der Rückstand gewogen. Dieser Rückstand ist das Rohfilicin (Fili-

[1]) In der Folge als Al_2O_3 bezeichnet.
[2]) Schriftliche Mitteilung an Dr. *Gfeller*.

cinum crudum) und nach *Brieger* (8) identisch mit Filmaron. Da aber trotz dieser Wertbestimmung und einer eventuellen Einstellung der Extrakte auf einen bestimmten Gehalt (17, 27) an Rohfilicin die Wirksamkeit aller Filixpräparate sehr starken Schwankungen unterworfen ist, wurde in den letzten Jahren erneut über diese Droge gearbeitet, und zwar suchte man einerseits eine biologische Wertbestimmungsmethode (9, 10, 11, 12, 13, 14, 19, 21, 34, 35, 50) und anderseits Aufklärung über den Einfluß der Stammpflanze (16, 17, 33), des Standorts (15, 58), der Sammelzeit (15, 16, 17), der Verarbeitung (17) und der Aufbewahrung (18, 20).

Die Resultate sind nicht eindeutig, verschiedene Widersprüche sind noch zu klären; so verbietet z. B. die Ph. H. V ausdrücklich die Verabreichung des Extraktes in Ricinus-öliger Lösung [3]) (52), während verschiedene andere Autoren im Gegensatz dazu angeben, daß Extractum Filicis am besten in Oel gelöst verabreicht werden soll (8, 22, 27), wobei Oleum Ricini genau so gut wie ein anderes Oel verwendet werden könne (22) oder sogar noch die Wirkung verbessern soll (27). Auch über den Einfluß der Sammelzeit und der Meereshöhe des Standorts auf den Gehalt an wirksamem Prinzip findet man die heterogensten Angaben (15, 16).

Bei der Vorbereitung der Ph. H. V wollte man sich die Ergebnisse der neueren Forschung auf diesem Gebiet zunutze machen und ersetzte den alten in allen Ländern üblichen Extrakt (= E-IV), der die Gesamtheit der im Rhizom enthaltenen ätherlöslichen Bestandteile darstellte, durch das Rohfilicin, hergestellt nach der früheren Wertbestimmungsmethode. Dieser Extrakt (= E-V) enthält nun nur noch die ätherlöslichen organischen Säuren, deren Bariumsalze in Wasser löslich sind, eventuell neben Spuren ätherlöslicher neutraler Körper, die durch den beim Ausschütteln in Barytwasser gelösten Aether hineingelangen konnten (51).

Als Testsubstanz wird bei den biologischen Versuchen durchwegs Filmaron verwendet, das nach Angabe der Herstellerin, Firma *Böhringer*, Mannheim-Waldhof, und nach dem Entdecker *Kraft* (5) eine einheitliche amorphe Säure ist, die trocken oder in öliger Lösung (27) unbegrenzt haltbar, sonst äußerst leicht zersetzlich ist. *Kraft* hat nirgends eine genaue Darstellungsvorschrift veröffentlicht, deshalb ist es begreiflich, daß sich in der Literatur über Filmaron sehr verschiedene Angaben finden. Nach *Brieger* ist es identisch mit Rohfilicin (8), er bezeichnet es außerdem übereinstimmend mit *Thoms* (23), *Gehe* (24) und dem DAB. 6 (25) als Aspidinolfilicin $C_{47}H_{52}O_{16}$, Smp. 60° (Smp. 160° [23]). Die Angabe von *Brieger* steht im Widerspruch zu *Lebeau* (26), der das Rohfilicin als nicht einheitlich beschreibt, ebenfalls im Gegensatz zu *Hager* (29) und *Fumarola* (36), die prinzipiell andere Darstellungsvorschriften angeben.

Ich versuchte nun mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse der Lösung dieses Problems näher zu kommen und stellte mir zunächst folgende Fragen:

a) Ist es möglich, den Unterschied in der Wirksamkeit von E-IV und E-V durch das Chromatogramm zu erklären?

b) Ist Filmaron einheitlich und was ist der chromatographische Unterschied von E-V und Filmaron?

Um sicher zu gehen, stellte ich mir die Extrakte selbst her, und zwar aus zwei verschiedenen Ausgangsmaterialien:

1. Rhizoma Filicis pulvis von unbekannter Herkunft = B. Die mikroskopische Untersuchung ergab ein nicht einwandfrei sauberes Pulver, in dem aber außer Sand nicht mit Sicherheit irgendwelche Verfälschungen nachgewiesen werden konnten.

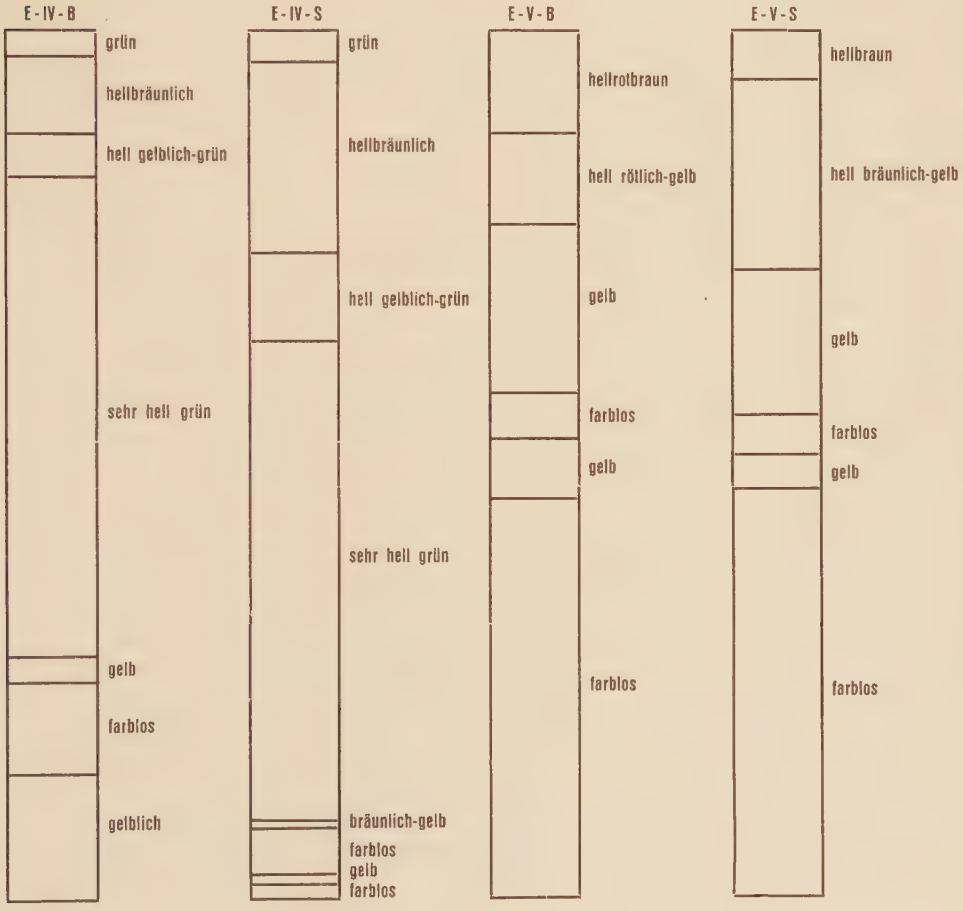
[3]) Dasselbe Verbot und eine Erklärung hierfür finden sich bei *Lebeau* (26).

Dazu ist zu bemerken, daß es im feinen Pulver äußerst schwierig ist, ähnliche Farne neben Aspidium Filix mas mit Sicherheit nachzuweisen. Der Unterschied liegt hauptsächlich im Rand der Spreuschuppen (28, 58); bei Aspidium Filix mas (L.) Swartz hat dieser Rand charakteristische, auch im feinen Pulver auffindbare Zähne, deren Anwesenheit in diesem Pulver leicht festzustellen war. Ihr Fehlen an einem Teil der in der Droge enthaltenen Spreuschuppen ist beim Pulver fast unmöglich zu beweisen.

2. Rhizoma Filicis aus den Karpathen = S, gesammelt im Herbst 1937, gepulvert Ende Januar 1938 und sofort zum Extrakt verarbeitet. Die mikroskopische Untersuchung ergab ein reines Pulver von Aspidium Filix mas.

Aus je 500,0 g dieser Drogenpulver wurden nun Extrakte nach den Vorschriften der Ph. H. IV und V bereitet und als E-IV-B, E-V-B, E-IV-S und E-V-S bezeichnet.

Chromatographiert wurden alle vier Extrakte in 1—5proz. ätherischer Lösung an Al_2O_3 und mit Aether entwickelt, wobei sich das Bild jeweilen nicht mehr stark veränderte.

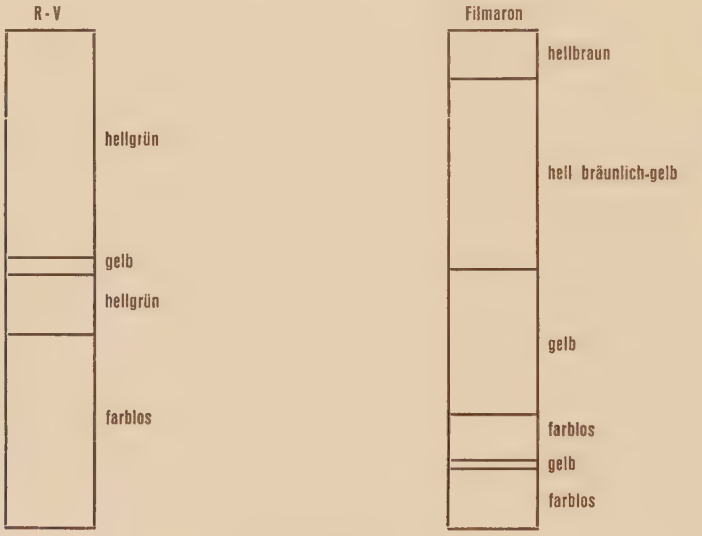


Aus den Abbildungen auf Seite 11 geht hervor, daß sich die Chromatogramme von E-IV und E-V nicht vergleichen lassen, mit Ausnahme vielleicht der untersten intensiv gelben Zonen, die eventuell identisch sind.

Einen weiteren Vergleichspunkt ergab das Chromatogramm der ätherischen Lösung, die bei der Herstellung des E-V nach dem Ausschütteln mit Barytwasser zurückbleibt, also die nicht sauren ätherlöslichen Bestandteile der Farnwurzel enthält (= R-V). Endgültige Aussagen über die Identität der vergleichbaren Zonen können erst nach Eluierung und Reindarstellung gemacht werden.

Eine mögliche Erklärung für die auffälligen Verschiedenheiten der Chromatogramme E-IV und E-V wäre die Annahme, daß die in E-V vorhandenen freien Säuren erst durch die Behandlung mit Barytwasser verseift werden und also in der Pflanze und E-IV als Ester vorliegen.

Filmaron [4]) stand mir nur in öliger Lösung, so wie es in den Handel kommt, zur Verfügung. Da es aber, wie schon erwähnt, in diesem Zustand (27) unbegrenzt haltbar sein soll, und das Vehikel, ein neutrales Pflanzenöl (25), im Chromatogramm nicht stört [5]), kann es gut zum Vergleich dienen.



Die Aufteilung in fünf Zonen zeigt deutlich, daß Filmaron, entgegen der Behauptung *Krafts* (5), nicht einheitlich ist. Sehr interessant und frappant ist die große Aehnlichkeit mit den Bildern von E-V-B und E-V-S, so daß die Vermutung, Filmaron und E-V seien identisch, auf der Hand liegt. Für die in der Säule haftenden Substanzen ist das sehr leicht zu beweisen durch das «Mischchromatogramm» (31), das analog zum Mischschmelzpunkt ohne weiteres über die Identität oder Nichtidentität der entsprechenden Zonen entscheiden läßt [6]).

[4]) Filmaron, amorphes, strohgelbes Pulver, Smp. 60° (24) konnte ich mir nicht beschaffen.

[5]) Ich habe verschiedene Pflanzenöle in ätherischer Lösung an Al_2O_3 chromatographiert, z. B. Ol.Olivar., Ol.Sesami, Ol.Arachid. Alle gehen fast quantitativ durch die Säule, lassen nur eine schwache, gelb bis rötlich bis bräunliche Zone, die sich beim langen Entwickeln mit Aether eventuell noch aufteilt in mehrere Zonen (vgl. auch [30]).

[6]) Bei Identität überdecken sich die entsprechenden Zonen, bei Nichtidentität addieren sie sich.

Das Bild zeigt in der Tat, daß sich die Mischung Filmaron - E-V nicht weiter aufteilen läßt, sondern dasselbe Bild ergibt wie die beiden Komponenten.[7])

Der Grund der verschiedenen Wirkung von E-IV und E-V ist nach wie vor unbekannt. Folgende Erklärungen sind möglich:

1. Das wirksame Prinzip geht beim Ausschütteln nicht ins Barytwasser über; in dem Fall muß es im R-V zu finden sein.

2. Das wirksame Prinzip ist alkaliempfindlich und wird beim Behandeln mit Barytwasser ganz oder teilweise zerstört.

3. Rhizoma Filicis ist im Handel sehr oft verfälscht mit äußerlich ähnlichen, fast oder ganz unwirksamen Farnwurzeln (28, 49); es könnte sein, daß die den Beobachtungen über die geringe Wirksamkeit von E-V zu Grunde liegenden Extrakte zufälligerweise alle aus minderwertiger Droge hergestellt worden wären; die Wahrscheinlichkeit der Richtigkeit dieser Annahme ist aber sehr gering, da die Beobachtung, wie oben gezeigt, von ganz verschiedener Seite bestätigt wurde.

4. Eine weitere Fehlermöglichkeit liegt in der verschiedenen Verschreibungsform der Extrakte. E-IV wird am Basler Bürgerspital immer mit 1,0 Chloroform verabreicht, E-V dagegen ohne Chloroform, in Kapseln oder in öliger Lösung (s. a. [22]). Das Chloroform kann den Bandwurm betäubt und so die Wirkung verbessert haben.

Die Lösung des Problems auf chromatographischem Weg soll noch weiter versucht werden. Durch diese Methode ist eine einfache Trennung der verschiedenen Komponenten, ihre Reindarstellung und biologische Prüfung möglich.

[7]) Ueber die Identität der Filtrate läßt sich damit nichts aussagen.

Aether.

Es hat sich in Vorversuchen gezeigt, daß Aether beim Durchsaugen durch eine Al_2O_3-Säule unter gewissen Bedingungen seinen Gehalt an Peroxyd verliert. Daß es sich hierbei um die mögliche Lösung einer sehr aktuellen Frage handelt, zeigen die Publikationen aus der letzten Zeit, die sich mit dem Problem beschäftigen, wie Aether am einfachsten von seinem Gehalt an Peroxyd befreit (47) und peroxydfrei aufbewahrt werden kann (48, 54, 55).

Von *Rieche* und *Meister* (47) wurde 1936 eine ausführliche Arbeit veröffentlicht, in der sie sich nicht nur bemühen, eine gute Reinigungsmethode anzugeben, sondern mit Modellversuchen die Autoxydation des Aethers aufzuklären trachten. Als Endprodukte der äußerst komplizierten Oxydationszwischenstufen nehmen sie Alkohol, Azetaldehyd, Essigsäure, Wasserstoffperoxyd und das äußerst explosive «Aetherperoxyd» an. Gerade wegen der Explosionsgefahr dieses einen Oxydationsproduktes ist es unter anderem wichtig, eine möglichst einfache und leicht durchführbare Reinigungsmethode zu besitzen. Die Verfasser betonen die Wichtigkeit der Tatsache, daß beim Reinigen nicht nur die Peroxyde, sondern auch deren Zersetzungsprodukte entfernt werden müssen, da diese eine rasche Luftoxydation begünstigen. Sie behandeln also den Aether hintereinander mit Ferrosulfat (zur Disproportionierung der Peroxyde), mit Natronlauge (zur Neutralisation der Säuren und Verharzung der Aldehyde) und mit Chromtrioxyd (zur völligen Entfernung von Aldehyden und eventuell vorhandenen ungesättigten Verbindungen), wobei sie im Verlauf der Prozedur dreimal destillieren. Eine einfachere Methode, die zum selben Ziel führt, wäre natürlich sehr erwünscht.

Diese bestechenden Vorzüge der Einfachheit besitzt nun die Filtration durch Al_2O_3 (Filtration ohne Trocknen, Destillieren oder irgendwelches Nachreinigen).

Mit quantitativen (Titrationen mit Kaliumjodid, Essigsäure und Natriumthiosulfat) und qualitativen (*Jorissen*, Phenolphthalin, Lackmus, *Neßler* [48, 56, 57]) Reaktionen wurde der Aether vor und nach der Adsorption an Al_2O_3 geprüft; ich stellte fest, daß nicht nur die Peroxyde, sondern auch Aldehyde und Säuren in der Säule haften bleiben.

Aus nicht genau untersuchten Gründen erschöpft sich die Al_2O_3-Säule ziemlich rasch und die Verluste sind relativ groß; die praktische Anwendung der Methode zur Herstellung größerer Mengen peroxydfreien Aethers ist deshalb noch nicht möglich. Immerhin zeigt es sich, daß eine rasche und einfache Reinigung des Aethers auf diesem Wege gelingt. Eine Verbesserung des Verfahrens könnte durch die Wahl eines stärker wirkenden Adsorbens erzielt werden.

Extractum Aesculi hippocastani fluidum.

Extractum Aesculi hippocastani fluidum wird im allgemeinen dargestellt durch Extraktion (Perkolation) des Samenpulvers der Roßkastanie (Aesculus hippocastanum L.) mit Spiritus dilutus.

Ein Extrakt, das mit Pulver IVa hergestellt wurde, war überraschenderweise hellgelb statt dunkelbraun wie die übliche Handelsware. Nachfragen ergaben, daß im allgemeinen zur Darstellung ein etwas gröberes Pulver (IV) verwendet wird.

Die Vermutung lag nahe, daß im feineren Pulver (IVa) die harten, schwerer pulverisierbaren Stückchen der Samenschale mechanisch entfernt worden waren und demzufolge fehlten. Mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse war die Richtigkeit dieser Vermutung ohne weiteres zu beweisen.

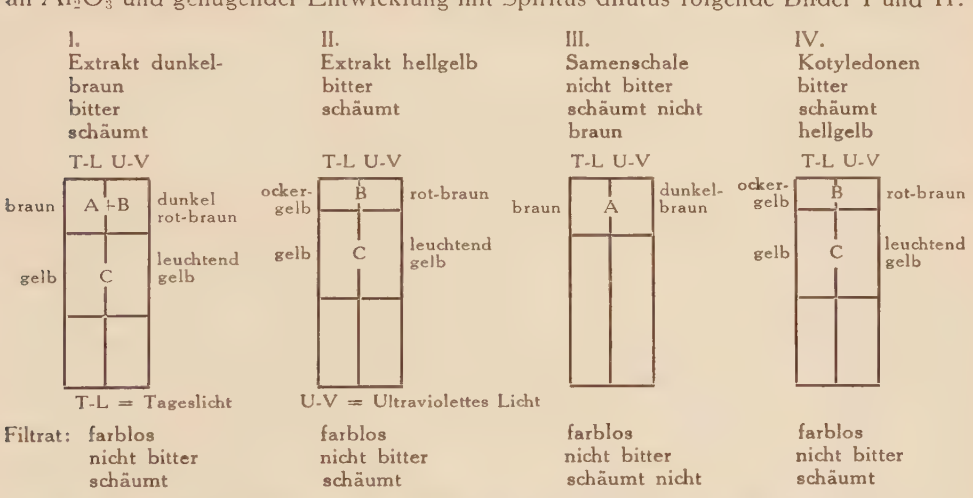
Die Samen von Aesculus hippocastanum enthalten in der Hauptsache an Stoffen, die in Spiritus dilutus löslich sind, nach *Wehmer* (60) und *Klein* (61):

in der *Samenschale:* Tannin (ein nicht näher definierter Katechingerbstoff),
in den *Kotyledonen:* Quercitrin, Saponin, Bitterstoff.

Da man wohl annehmen darf, daß Anwendung und Wirkung des Extr. Aescul. hippocast. fl. hauptsächlich auf seinem Gehalt an Saponinen beruht (vgl. auch 62)[8]), hat es praktisch keine große Bedeutung, ob das Extrakt das Tannin der Samenschale enthält oder nicht.

Es lag mir mehr daran, an diesem Beispiel zu zeigen, wie eindeutig ein solches Problem mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse zu lösen ist; denn die Hauptschwierigkeit bei jeder rein chemischen Untersuchung von Pflanzenextrakten besteht ja darin, daß in der Regel ein kompliziertes Gemisch von oft sehr ähnlichen Inhaltsstoffen vorliegt, deren einfache Trennung meist unmöglich ist, während deren Untersuchung im Gemisch infolge der mannigfaltigen und unübersehbaren Wechselwirkungen keine klaren Reaktionen gibt.

Abgesehen von kleinen Unregelmäßigkeiten zeigen die Extrakte nach Adsorption an Al_2O_3 und genügender Entwicklung mit Spiritus dilutus folgende Bilder I und II:



I läßt sich leicht in zwei Zonen, eine braune (A+B) und eine gelbe (C) aufteilen, während II oben eine nur unmerklich von der unteren gelben (C) verschiedene ockergelbe Zone (B) aufweist. Unter der Quecksilberlampe betrachtet, sind I und II fast gleich, nur fluoresziert die obere Zone bei I (A+B) dunkler als bei II (B). Um näheren Einblick in die Zusammensetzung der Extrakte zu erhalten, konstruierte ich folgende Modellversuche:

Ich extrahierte getrennt Samenschale und Kotyledonen und erhielt nach Adsorption die Bilder III und IV.

[8]) Immerhin ließe sich darüber diskutieren,, ob bei der Anwendung des Extraktes gegen Haemorrhoiden nicht doch der Gehalt an Tannin sehr wesentlich für die Wirkung ist.

II und IV sind identisch; damit war bewiesen, daß das hellgelbe Extrakt, wie vermutet, nur die Bestandteile der Kotyledonen enthielt. Es blieb noch aufzuklären, weshalb sich das dunkelbraune Extrakt nur in zwei und nicht, wie zu erwarten wäre, in drei Zonen aufteilen läßt. Eine Mischung der Extrakte III und IV und nachfolgende Adsorption ergab dasselbe Bild wie I; ebenso eine nacheinander erfolgende Adsorption von III und IV bzw. IV und III auf derselben Säule. Dabei zeigte sich, daß die Zonen A und B nicht in zwei Schichten getrennt, sondern als Gemisch im obersten Teil der Säule hängen bleiben. Im diffusen Tageslicht wird die ockergelbe Farbe von B ganz verdeckt von der braunen Zone A, während umgekehrt im U-V-Licht hauptsächlich der rotbraune Ton von B hervorsticht und von A nur etwas verdunkelt wird gegenüber dem Farbton der reinen Zone B.

Qualitative Proben ergaben teilweise Aufschluß über die Verteilung der verschienenen Komponenten im Chromatogramm. Der wichtigste Körper, das Saponin, fand sich im Filtrat, was durch die Schaumprobe (63) ohne weiteres festgestellt werden konnte. Da der von *Wehmer* erwähnte Bitterstoff (60), über dessen chemische Zusammensetzung scheinbar nichts Näheres bekannt ist, in der Säule haften bleibt (Geschmacksprobe), ergibt sich hier eine neue Möglichkeit zur Trennung des Saponins vom Bitterstoff, was für die technische Darstellung des Roßkastaniensaponins (62) von Bedeutung sein könnte. Das Tannin der Samenschale wird adsorbiert in der Zone A, das Quercitrin in Zone B oder C, worüber erst weitere Untersuchungen genaue Auskunft geben können.

Oleum Hyperici.

Oleum Hyperici, das Johannisöl, ist nicht offizinell; es existiert demzufolge auch keine allgemein gültige Vorschrift für die Darstellung. In den letzten Jahren bemühten sich verschiedene Apotheker, eine möglichst gute Vorschrift auszuarbeiten (65, 66). Nach diesen wird das Oel bereitet durch zehntägige Mazeration der frischen Summitates Hyperici perforati (Blüten und Blätter, am besten ohne Stengel) entweder mit Olivenöl an der Sonne [9]) oder mit Alkohol, wobei das Oel erst nachträglich zugesetzt und der Alkohol auf dem Wasserbad vertrieben wird. Die schonungsvollere Methode ist entschieden die übrigens auf die alte im Volk gebräuchliche Methode der «Sonnendestillation» zurückgehende Mazeration mit Oel am Sonnenlicht, wobei die Temperatur auch bei starker Bestrahlung kaum über 40° steigt, während bei der Erhitzung des Oels auf dem Wasserbad bis zur völligen Entfernung des Alkohols sicher eine Temperatur von nahezu 100° erreicht wird. Ein näherer Einblick in die Chemie der Inhaltstoffe wird dies erläutern.

Hypericum perforatum L. ist auf Blüten und Blättern übersät von roten, durchsichtigen Drüsen. Verschiedene Autoren haben daraus Farbstoffe isoliert und untersucht; ganz eindeutig sind die Resultate nicht. Es steht fest, daß in den Blüten (80) ein gelber Farbstoff Hyperin vorkommt, der von *Jerzmanowska* (67) neuerdings als Quercetin-d-galactosid identifiziert werden konnte. Daneben kommt in den Drüsen ein roter, wasserunlöslicher Farbstoff, das Hypericumrot (Hypericin), vor.

[9]) Dabei wird das Produkt leicht ranzig, was aber vermieden werden kann, wenn man das frische Kraut zuerst 1—2 Tage lufttrocken werden läßt.

Seine Bruttoformel (wohl die des Aglukons), $C_{16}H_{10}O_5$, wird in der neueren Literatur (68, 69) erwähnt; sie geht zurück auf die Arbeit von *Cerny* (70). Ganz interessant ist eine Arbeit von *Siersch* (71) aus dem Jahre 1927, in welcher der Autor als Ergebnis seiner Untersuchungen folgert, es handle sich um ein Pelargonidin-rhamnoglucosid, also ein Anthocyan. Allerdings stehen damit die Löslichkeitsverhältnisse (in Wasser unlöslich, in Oel leicht löslich) sehr in Widerspruch (72)[10]). Wenn es sich, wie aus diesen Angaben hervorgeht, um glykosidische Farbstoffe handelt, so können durch stärkeres Erwärmen die Zuckerreste abgespalten werden[11]), wodurch sich der Charakter dieser Farbstoffe wesentlich verändert.

Oleum Hyperici ist ein in der Schweiz viel gebrauchtes Volksheilmittel, das gegen verschiedene Uebel meist äußerlich (z. B. gegen Brandwunden), manchmal auch innerlich zur Anwendung kommt. Nach *Hager* ist von den Farbstoffen nur der rote in Oel löslich (79), außerdem das im Johanniskraut enthaltene ätherische Oel; ob einem dieser beiden Bestandteile eine wesentliche medizinische Wirkung zukommt, ist unbekannt (76). Auf jeden Fall ist es aber unstatthaft, ein künstlich gefärbtes Oel in den Handel zu bringen und damit den Käufer zu täuschen. Trotzdem sind eine ganze Reihe Johannisöle im Handel, die entweder mit Johanniskraut überhaupt nie in Berührung kamen, oder doch wenigstens künstlich nachgefärbt wurden.

Gefärbt wird mit Alkannin oder Alkannaextrakt, einem leicht zugänglichen öllöslichen roten Farbstoffgemisch (75, 77), das in geeigneter Verdünnung dem Oel eine himbeerrote Farbe verleiht[12]). Ein echtes Johannisöl ist nie himbeerrot, sondern gelbrosa bis rosa mit auffallender roter Fluoreszenz, die dem gefälschten Oel fehlt, wenn es nicht neben Alkannin noch Hypericumrot enthält.

In der Literatur finden sich verschiedene Methoden, um den fremden Farbstoff zu erkennen (73, 74); danach wird das Oel direkt oder nach Aufsaugen auf Filtrierpapierstreifen unter der Analysenquarzlampe untersucht. Die Methode scheint sehr einfach, aber sie führt leider zu ganz widersprechenden Resultaten, so daß sie unbrauchbar ist.

Ich versuchte nun mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse eine bessere Methode auszuarbeiten. Als Adsorbens wählte ich nach verschiedenen Vorversuchen Aluminium oxydatum anhydricum purissimum Merck; das Oel ließ ich nicht direkt, wie das von *Thaler* für den Nachweis der künstlichen Färbung von Fetten und Oelen vorgeschlagen wurde (78), sondern aus ätherischer Lösung adsorbieren.

Folgende Oele wurden untersucht:

A) übliche Handelsware, bezeichnet als:

1. Oleum Hyperici floris recentis
2. Oleum Hyperici floris recentis
3. Oleum Hyperici coctum verum
4. Oleum Hyperici coctum

[10]) Eine mögliche Erklärung für die Wasserunlöslichkeit ginge vielleicht dahin, daß das Anthocyanidin in der Pflanze nicht nur mit Zuckern, sondern mit weiteren organischen Resten verestert ist, die seine Löslichkeit stark herabsetzen.

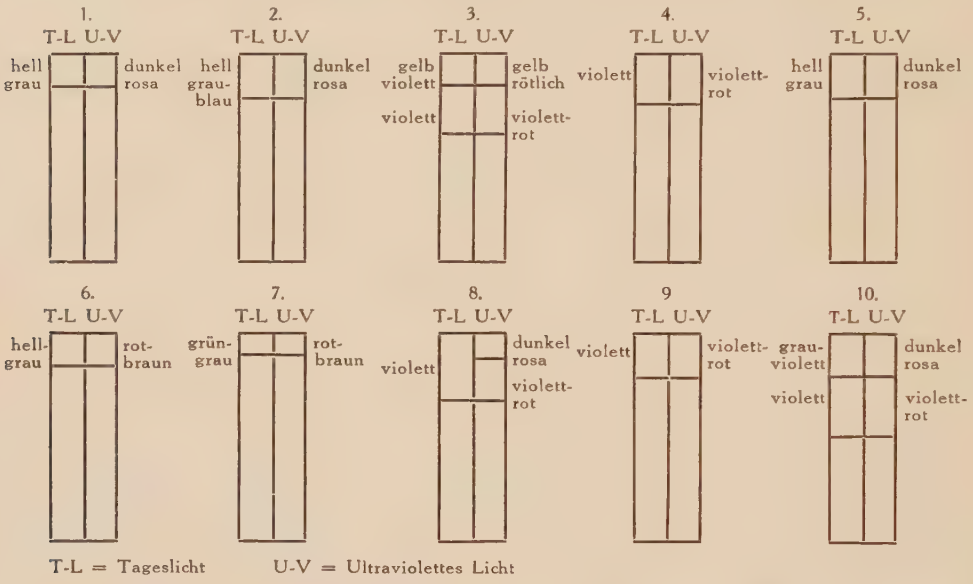
[11]) Bei der Aufarbeitung von natürlichen Anthocyanen wird darauf geachtet, daß die verdünnten Farbstofflösungen nicht über 30—40° erwärmt werden, vgl. die Arbeiten von *P. Karrer* und Mitarbeitern (81).

[12]) Nach *Peyer* (64) sollen auch Färbungen mit Anilinfarben vorkommen.

B) zum Vergleich:

5. Oleum Hyperici aus der Sammlung von Professor *Zörnig*, das 1936 aus frischen Blüten (Süd-Deutschland) hergestellt wurde.
6. Oleum Hyperici, das ich selbst aus frischen Blüten und Blättern von Hypericum perforatum L. (Elsaß) durch Mazeration mit Oel an der Sonne darstellte.
7. Oleum Hyperici, das ich ebenfalls selbst aus frischen Blüten und Blättern von Hypericum maculatum ssp. eumaculatum Schinz et Thell (Ober-Engadin) darstellte.
8. Oleum Hyperici aus getrocknetem Kraut, nachgefärbt mit Alkannaextrakt.

Folgende Bilder zeigen die wesentlichen Zonen der Chromatogramme im diffusen Tageslicht und unter der Analysenquarzlampe:



T-L = Tageslicht U-V = Ultraviolettes Licht

Aus den Bildern 3, 4 und 8 geht hervor, daß sich jede, auch nur schwache Färbung mit Alkannaextrakt durch eine stark violette Zone im oberen Teil des Chromatogramms schon im diffusen Tageslicht erkennen läßt. Daß diese Zone tatsächlich vom Alkannaextrakt herrührt, konnte durch ein Kontrollchromatogramm einer ätherischen Lösung dieses Extraktes leicht bewiesen werden (siehe 9). Aus den Bildern 1, 2, 5 und 6 ersieht man, daß das Hypericumrot eine unscheinbare, meist hellgraue Zone liefert, die erst unter der Analysenquarzlampe stark dunkelrosa bis braunrot aufleuchtet. Neben diesen beiden Hauptzonen erscheinen zuoberst eine grüne (Chlorophyll) und unter den Farbstoffzonen verschiedene schmale gelbe Linien, die vom Vehikel (Ol. olivar. und andere Oele) herrühren; diese Zonen können also für die Beurteilung der Echtheit des Johannisöles vernachlässigt werden.

Schwieriger ist es, das Hypericumrot neben dem Alkannin nachzuweisen; in einem Modellversuch (Mischung der Oele 2 und 4) gelang es nach längerem Entwickeln mit Aether, zwei Zonen zu erhalten (Bild 10), deren obere durch das

Violett der unteren verunreinigt und deshalb im Tageslicht nicht ohne weiteres zu erkennen ist, während ihre Identifizierung im ultravioletten Licht durch die typische dunkelrosa Fluoreszenz leicht gelingt. Dasselbe gilt für 8; hier liegt also ein ursprünglich echtes Oel vor, das nachträglich gefärbt wurde. Bei 3 ist schon im Tageslicht eine obere Zone zu erkennen, es fehlt ihr aber die typische dunkelrosa Fluoreszenz im U-V-Licht. Da es sich laut Angabe um ein Oleum Hyperici verum *coctum* handelt, besteht die Möglichkeit, daß sich das Hypericumrot infolge der Erhitzung bei der Darstellung chemisch verändert hat (siehe oben) und deshalb mit anderer Farbe fluoresziert.

Bild 7 zeigt, daß auch andere Hypericumarten einen Farbstoff mit gleichen oder sehr ähnlichen Eigenschaften enthalten, nur scheinbar in viel geringerer Menge.

Aus den Beobachtungen geht hervor, daß es mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse leicht möglich ist, eine Verfälschung mit Alkanna im Johannisöl eindeutig zu erkennen.

Safran.

Kultur und Ernte des Safrans benötigen unverhältnismäßig viel Handarbeit; infolgedessen ist die echte Droge recht teuer und wird auf die mannigfaltigste Art verfälscht.

Trotzdem die Literatur über Safranfälschungen schon recht umfangreich ist, und man die meisten künstlichen Beimengungen mit Hilfe chemisch-analytischer oder pharmakognostisch-mikroskopischer Methoden sicher erkennen kann, versuchte ich die chromatographische Adsorptionsanalyse zur Beurteilung des Safrans auf Echtheit und Reinheit heranzuziehen. Versuche in dieser Richtung sind schon von *Franck* (82) gemacht worden.

Vor allem schien es aussichtsreich, künstliche Farbzusätze so auf ganz einfache Weise und mit wenig Substanz einwandfrei nachweisen zu können, während gerade diese Verfälschungen bei den anderen Analysenmethoden nicht so sicher erfaßt werden. Begreiflicherweise ist es außerordentlich schwierig, aus dem Chromatogramm Schlüsse auf die chemische Zusammensetzung der fremden Farbstoffe zu ziehen, besonders, da es sich meist um ganz außerordentlich kleine Mengen handelt. Für die Untersuchung der Droge ist es aber viel wichtiger, rasch und zuverlässig die An- oder Abwesenheit einer Verfälschung, als deren Natur und genaue Zusammensetzung festzustellen. Für Zusätze rein pflanzlicher Art hat sich die Methode nicht besonders bewährt; diese können viel rascher und sicherer mikroskopisch erfaßt werden. Um Irrtümer in der Beurteilung der Chromatogramme möglichst zu vermeiden, war es notwendig, einerseits alle Versuche unter den gleichen Bedingungen (Konzentration, Menge, Durchlaufsgeschwindigkeit, Durchmesser und Höhe der Säule, Adsorptionsmittel) anzustellen und andererseits möglichst viel verschiedene Proben von reinem und verfälschtem Safran zu untersuchen, um die zufälligen Ungleichheiten der Bilder auszuschalten und möglichst die charakteristischen Zonen zu erkennen. Zur Kontrolle wurden alle Proben auch mikroskopisch untersucht.

Nach Vorversuchen mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln wählte ich in Anlehnung an *Franck* (82) folgende Arbeitsmethode:

· 0,5 g Droge wurden mit 20 cm^3 70proz. Alkohol kurz aufgekocht, nach dem Erkalten filtriert, mit 30 cm^3 70proz. Alkohol nachgewaschen und der Auszug auf eine Säule von mit Leitungswasser aktiviertem Aluminiumoxyd [13]) (Höhe 25 cm, Durchmesser 25 mm) gegossen, langsam durchgesaugt, so daß ca. 60 Tropfen pro Minute abflossen; das Chromatogramm wurde mit 100 cm^3 70proz. Alkohol entwickelt.

Anordnung und Farbe der Zonen im diffusen Tageslicht (T-L) und unter der Quecksilberlampe (U-V) wurden genau notiert. Die Fluoreszenzfarbe des Filtrates im U-V wurde nur dann zur Beurteilung herangezogen, wenn sie besonders auffällig war. Es hatte sich nämlich bei den Vorversuchen gezeigt, daß der 70proz. Alkohol aus dem Aluminiumoxyd Spuren herauslöst und das Filtrat deshalb schwach blau fluoresziert [14]); blaue Fluoreszenz des Filtrates mußte also als untypisch für die Beurteilung des Drogenauszugs außer Betracht fallen.

Als erstes untersuchte ich mehrere Proben von einwandfrei *reinem Safran* verschiedener Herkunft [15]).

Die mir zur Verfügung stehenden Proben der *offizinellen Droge* aus *Spanien* und *Süd-Frankreich* zeigten mit kleinen Abweichungen alle dasselbe Bild: zwei ungefähr gleich breite Hauptzonen A und B und eine je nach der Probe verschieden breite und verschieden stark gefärbte Nebenzone C (Bild I). Das Filtrat zeichnet sich durch nichts Besonderes aus; es ist gelblich und fluoresziert im U-V schwach blau mit gelbem Schimmer.

Ein Safran *türkischer* Herkunft, der wohl von einer anderen Crocus-Art stammt [16]) und gar nicht offizinell ist, ergab ein vollständig anderes Bild (II).

Feminell, d. h. gefärbte und zusammengerollte Zungenblüten von Calendula officinalis (83) gehören zu den klassischen Safranverfälschungen und kommen als solche in den Handel. Zwei Feminell-Proben, wovon die eine laut Angabe mit Fuchsin gefärbt sein soll, standen mir zur Verfügung; zum Vergleich untersuchte ich zwei Proben *Flos Calendulae:*

Flos Calendulae tot. Flos Calendulae pulv.	(Bild III)
Feminell	(Bild IV)
Feminell (+ Fuchsin ?)	(Bild V)

Eine schmale graubraune obere Zone und eine breitere gelbe Hauptzone zeigt das nicht sehr charakteristische Bild der reinen Flos Calendulae (III). Die Farbzusätze sind im Chromatogramm sehr auffällig: bei der ersten Probe (IV) erscheint zuoberst eine stark karminrote Zone, während bei der zweiten (V) die Farbe (Fuchsin ?) nicht auf der Säule haftet, dafür um so auffälliger im Filtrat erscheint. Ein Kontrollversuch mit einer sehr verdünnten Lösung von Fuchsin in 70proz. Alkohol ergab dasselbe Resultat, d. h. der Farbstoff durchwandert die Säule und gibt sich im Filtrat durch stark violette Färbung im T-L, im U-V durch intensiv blaurote Fluoreszenz zu erkennen.

---

[13]) Nach *Ruggli* und *Jensen* (46).

[14]) Die Fluoreszenz des Filtrats ist durch Al_2O_3-Suspension (Kolloid?) oder durch ein Al · · ·-Salz veranlaßt?

[15]) Die verschiedenen Proben von reinem und verfälschtem Safran stellten mir die Herren Prof. Dr. *Zörnig*, Dr. *Auerbach* und Dr. *Bohny* aus ihren Sammlungen zur Verfügung, wofür ich ihnen sehr zu Dank verpflichtet bin.

[16]) Mikroskopisch sind diese Narbenfragmente nicht von echtem Safran zu unterscheiden.

Eine verfälschte Safranprobe (VI) ergab bei der mikroskopischen Prüfung eine Mischung von Crocus und Flos Calendulae. Das Chromatogramm (Bild VI) zeigte nur *eine* im T-L und U-V gelbe Zone, statt zwei, wie bei einer reinen Addition zu erwarten gewesen wäre. Entweder handelt es sich bei beiden Drogen um denselben Inhaltsstoff, oder der eine wird vom anderen bei dieser Versuchsanordnung überdeckt.

Zur Kontrolle mischte ich Flos Calendulae und Safran $\overline{aa}$ 0,25; das Chromatogramm war mit Bild VI identisch.

Eine weitere klassische Safranverfälschung ist das rote Sandelholz, *Lignum Santali rubrum* (84).

Die eine Droge zeigt nur eine dunkelviolette Zone (im U-V dunkelrotbraun) (Bild VII).

Die mikroskopische Untersuchung der verfälschten Probe VIII ergab ein Gemisch von Safran und Sandelholz. Hier addierten sich die Zonen, oben Sandelholz, darunter der Safran; nur zeigte die Sandelholzzone im T-L eine modifizierte Färbung, nicht dunkelviolett, sondern rostrot; die Untersuchung im U-V bewies, daß es sich doch um dieselbe Zone handelte. Die Safranzonen hingegen wurden durch die Gegenwart von Sandelholz besonders im U-V stark abgeschwächt (Bild VIII).

Zur weiteren Kontrolle machte ich folgende Modellversuche:

Crocus + Lignum Santali rubrum $\overline{aa}$
Crocus 9 + Lignum Santali rubrum 1

Bei der ersten Mischung war Safran so abgeschwächt, daß die Zone C im T-L nur schwach, im U-V überhaupt nicht mehr zu erkennen war. Die zweite Probe, also eine Mischung von nur 10% Sandelholz mit 90% Safran ergab einfache Addition. Aus dem Vergleich der verschiedenen Bilder und dem Resultat der mikroskopischen Untersuchung kann man schließen, daß die Probe VIII mindestens 50% Sandelholz enthält.

Eine Verfälschung, die sich als Gemisch von Safran und *Rhizoma Curcumae* (85) erwies, ergab ein auf den ersten Blick unverständliches Bild (X), da nur die Zone C des Safrans zu erkennen war. Vier Modellversuche mit Mischungen von Safran mit Rhiz. Curcumae in verschiedenen Mengenverhältnissen ergaben alle ungefähr dasselbe Bild, d. h. die gleiche Anzahl und Anordnung der Zonen, aber kleine Variationen in deren Breite und Farbintensität, was durch die Unterschiede in der jeweiligen Konzentration der einzelnen Komponenten ohne weiteres erklärt werden kann. Um das völlige Verschwinden der beiden Hauptzonen des Safrans, A und B, zu verstehen, machte ich zwei weitere Modellversuche, die mir zeigten, daß tatsächlich der Safran bei dieser Versuchsanordnung zum größten Teil von den Kurkumazonen überdeckt wird. Statt Auszüge von Mischungen verwendete ich solche von reinem Safran und reiner Rhiz. Curcumae und ließ sie nicht mit-, sondern nacheinander dieselbe Säule durchlaufen. Der erste Versuch zeigt IX das Bild von reiner Rhiz. Curcumae mit drei Zonen (im T-L nur zwei) und X dieselbe Säule nach der nachträglichen Adsorption von Safran. Beim zweiten Versuch wählte ich die umgekehrte Reihenfolge (reiner Safran XI; nachträgliche Adsorption von Curcuma X) und erhielt zum Schluß dasselbe Bild. Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß die Zonen A und B des Safrans von den Curcuma-zonen überdeckt werden, und zwar unabhängig davon, ob beide Drogen gleichzeitig oder nacheinander adsorbiert werden.

Saflor, die Blüten der Färberdistel Carthamus tinctorius, weisen schon durch ihren Namen auf ihre Verwendung als Safranersatz hin. Sie enthalten neben einem leicht wasserlöslichen gelben, einen roten alkohollöslichen Farbstoff, das Spanischrot, das aber durch Einwirkung von Luft und Licht sehr leicht zersetzt und deshalb in der Droge kaum als solches zu finden sein wird (86).

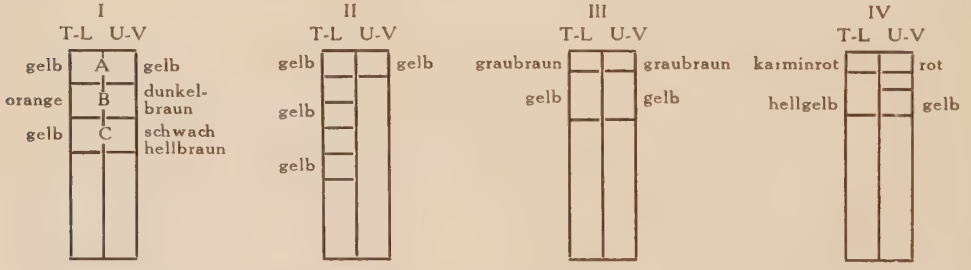
Bild XII zeigt reinen Saflor, Bild XIII eine Verfälschung von Safran mit Saflor, wobei aber aus dem Chromatogramm deutlich hervorgeht, daß der eine der beiden Bestandteile, vermutlich Saflor, künstlich aufgefärbt wurde. Die obersten drei Zonen stammen vom Safran, die folgenden drei vom Saflor, während für die zwei untersten und die Färbung des Filtrats ein fremder Farbzusatz verantwortlich ist.

Unter den Safranproben, die ich untersuchte, fanden sich mehrere mit einer sonst seltenen Verfälschung, den Blüten von *Onopordon Acanthium L.* (87).

Bild XIV zeigt das Chromatogramm der reinen Onopordonblüten, XV und XVI, beide als «Azafranes» bezeichnet, zwei gefärbte Proben derselben Droge. Während die oberste gelbe Zone auf allen drei Säulen fest haftet, lassen sich die künstlichen Farbzusätze, bei XVI eine breite, leuchtend gelbe Zone, bei XV zwei karminrote, die durch eine gelbbraune Schicht getrennt sind, durch weiteres Entwickeln mit 70proz. Alkohol vollständig eluieren.

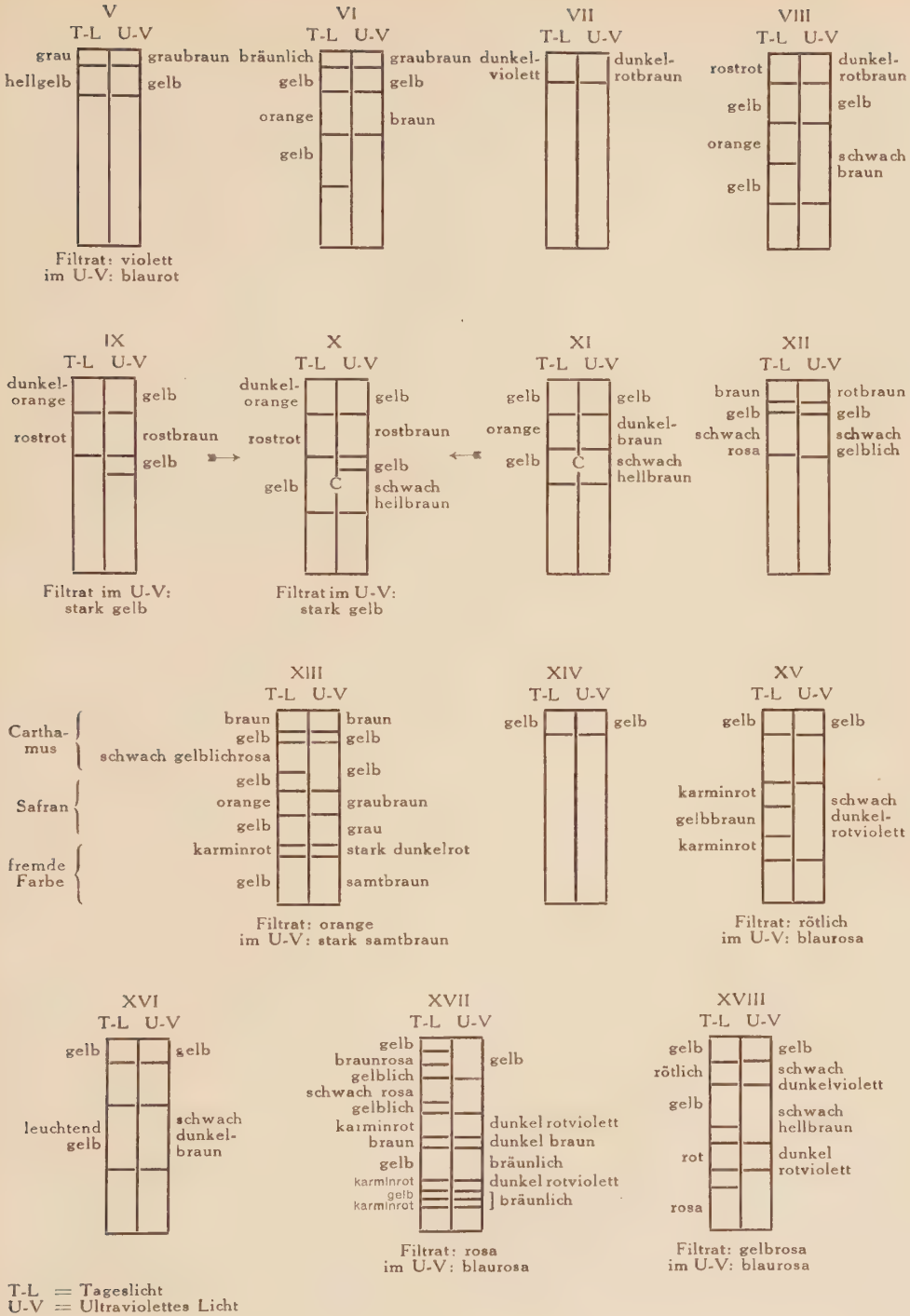
Noch bedeutend komplizierter wurde das Bild der Probe XVII. Nach kurzem Entwickeln konnten deutlich elf verschiedene Zonen unterschieden werden, während die mikroskopische Untersuchung nur zwei Bestandteile erkennen ließ, einerseits die typischen Blütenpartikelchen von Onopordon Acanthium, anderseits Holzfasern mit zahlreichen Hoftüpfeln, wahrscheinlich Sägemehl von Koniferenholz; alle Fragmente waren rot gefärbt.

Probe XVIII, die neben Onopordon vom Safran nur die Pollenkörner enthielt [17]), zeigte sich im Chromatogramm wieder deutlich die künstlichen Farbzusätze. Gerade diese letzten Untersuchungen (XIV—XVIII) zeigen deutlich den Wert der neuen Untersuchungsmethode. Da nach *Hegi* (88) die Blüten von Onopordon Acanthium hellpurpurn, selten blaßlila oder weiß sind, ist die rote Farbe der Droge an und für sich kein Beweis für deren künstliche Färbung. Erst durch das Chromatogramm kann die Anwesenheit und Mannigfaltigkeit der fremden Farbzusätze einwandfrei festgestellt werden.



T-L = Tageslicht U-V = Ultraviolettes Licht

[17]) Die vorhandenen Pollenkörner waren mikroskopisch weder in Form noch Größe noch Beschaffenheit der Exine von Safranpollenkörnern zu unterscheiden, was aber allerdings nicht beweist, daß es sich tatsächlich um solche handelt.



T-L = Tageslicht
U-V = Ultraviolettes Licht

Baldrian.

(Isolierung von Chlorogensäure.)

Bei Vorversuchen zur eventuellen chromatographischen Untersuchung verschiedener Baldrianpräparate zeigte sich auf der Aluminiumoxyd-Säule eine auffällige, sehr fest haftende gelbe Zone, die sich im U-V durch starke gelbe Fluoreszenz auszeichnete.

Von sechs untersuchten Tinkturen zeigten vier, d. h. eine nach Ph. H. IV und drei nach Ph. H. V, die beschriebene Zone, während zwei andere, eine nach Ph. H. V und ein Zyma-Dialysat, weder im T-L noch im U-V eine gelbe Zone erkennen ließen. Diese wird also durch eine Substanz verursacht, die nicht in allen Baldrianpräparaten vorkommt. Ob sie an der Wirkung dieser Droge irgendwie beteiligt ist, ist unbekannt.

Um diese Substanz näher zu untersuchen, versuchte ich, sie zu isolieren und zu identifizieren. Zu diesem Zweck wurde die aus der Säule herausgeschnittene gelbe Zone mit 1proz. Salzsäure durchfeuchtet und die Suspension mit Essigester ausgeschüttelt. Es resultierte sehr wenig einer farblosen kristallinen Masse, aus der sich durch Umkristallisieren aus viel Aether ein bei 150° schmelzendes Rohprodukt gewinnen ließ. Daß dieses tatsächlich die gesuchte Substanz darstellte, ging daraus hervor, daß es auf einem kleinen Aluminiumoxyd-Säulchen wieder die gelbe Zone ergab.

Das Rohprodukt zeichnete sich durch folgende Eigenschaften aus:

Es ist ziemlich leicht löslich in Wasser, die Lösung reagiert stark sauer (Kongo wird blau gefärbt).

Es löst sich sehr leicht in Methanol, beträchtlich in Essigester, sehr schwer in Aether.

Mit freien Alkalien bildet es leicht lösliche, intensiv gelb gefärbte Salze.

Es reduziert ammoniakalische Silberlösung in der Wärme, während Fehlingsche Lösung auch nach vorausgegangenem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure nicht reduziert wird. Mit Ferrichloridlösung wird es grün gefärbt; nach Zusatz von Soda schlägt die Farbe in braunrot um.

Mit Bleiazetat fällt aus der wässerigen Lösung ein schwer lösliches gelbliches Bleisalz.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß es sich wahrscheinlich um ein Brenzkatechin-Derivat, und zwar um eine ziemlich starke Säure handelt. Da diese Säure in salzartiger Bindung außerordentlich fest auf der Aluminiumoxyd-Säule haftet, bereitete die erschöpfende Elution mit Salzsäure große Schwierigkeiten; aus 300 g Tinktur konnten so nur wenige Milligramm Rohprodukt gewonnen werden.

Es wurde daher versucht, einen ausgiebigeren Weg zur Isolierung der reinen Substanz auszuarbeiten.

Dazu wurde die Tatsache verwendet, daß die unbekannte Säure ein schwer lösliches Bleisalz liefert.

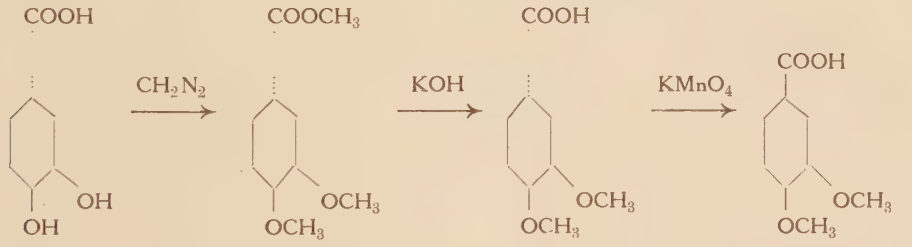
Die Isolierung gelang in folgender Weise: Die Tinktur wurde mit Wasser versetzt und zunächst vom Alkohol durch Eindampfen im Vakuum befreit; die in Wasser unlöslichen Bestandteile fielen dabei aus und wurden durch Ausschütteln mit Aether entfernt. Eine Prüfung des ätherlöslichen Teils auf einem Aluminiumoxyd-Säulchen (nach Verdampfen des Aethers, in 50proz. alkoholischer Lösung)

ergab, daß nur ein kleiner Teil der unbekannten Säure in diese Fraktion ging. Nach dieser Vorreinigung wurde die wässerige Lösung mit Bleiazetat versetzt und das Bleisalz auszentrifugiert. Das Filtrat zeigte bei der Prüfung auf dem Aluminiumoxyd-Säulchen keine gelbe Zone mehr; die gesuchte Säure war also vollständig ausgefällt. Das Bleisalz wurde in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und vom Bleisulfid abfiltriert. Der Bleisulfid-Niederschlag enthielt noch eine kleine Menge der gesuchten Säure adsorbiert, die sich durch Ausziehen mit Methanol gewinnen ließ. Sie war jedoch so unrein, daß sie vernachlässigt wurde.

Das Filtrat des Bleisulfid-Niederschlags wurde im Vakuum eingedampft. Es resultierte ein zäher gelber Sirup, aus dem durch mehrmaliges Umfällen und Umkristallisieren eine kleine Fraktion eines ganz reinen Produktes erhalten werden konnte. Dieses schmolz bei 219—221° korr. und zeigte dieselben qualitativen Reaktionen, wie das im Vorversuch erhaltene Produkt.

Die beschriebenen Eigenschaften stimmen annähernd überein mit denjenigen der in der älteren Literatur als Baldrianbestandteil angegebenen «grünigen Säure» (89) oder den «Kaffeegerbsäure ähnlichen Baldriangerbsäuren» (90), die aber bisher nie in kristallisierter Form erhalten wurden, und über deren Konstitution nichts Näheres bekannt ist.

Ein Teil der in der Literatur als Kaffeegerbsäuren beschriebenen Pflanzeninhaltsstoffe wurden später mit Chlorogensäure identifiziert (91, 92). Ihr Schmelzpunkt wird mit 207—208° angegeben (93) und die qualitativen Reaktionen stimmen zum großen Teil überein mit der aus Baldrian isolierten Säure. Ich vermutete deshalb, daß es sich bei der aus Baldrian gewonnenen Säure um Chlorogensäure handeln könnte, und der Beweis dafür konnte tatsächlich erbracht werden. Für die ersten orientierenden Versuche in dieser Richtung stand mir vorerst noch nicht ganz reines Material zur Verfügung. Es wurde daher ein Abbau versucht, der in guter Ausbeute stufenweise zu einem leicht kristallisierbaren und identifizierbaren Endprodukt führte.



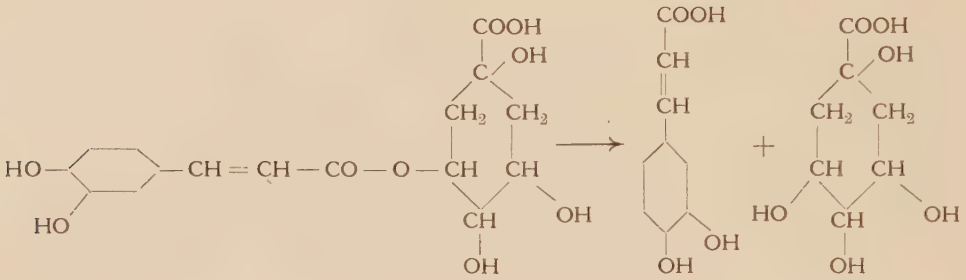
Die aus dem Baldrian isolierte Säure (I) wurde mit Diazomethan methyliert und mit Kalilauge verseift. Dieses Zwischenprodukt (III), eine gelbliche kristalline Masse, vom Schmelzpunkt 176—181° korr. ergab mit authentischer Veratrumsäure (Schmelzpunkt 184° korr.) eine Schmelzpunktdepression auf 152—172° korr., ist also damit nicht identisch. Außerdem bildet es kein gelbes Natriumsalz, ist also auch nicht mehr identisch mit dem Ausgangsprodukt.

Der weitere Abbau, die Oxydation mit Kaliumpermanganat im alkalischen Medium, führte erwartungsgemäß zu Veratrumsäure (IV). Ich erhielt farblose

Nadeln vom Schmelzpunkt 183—185° korr., wobei sich die Nadeln bei ca. 140° in große Prismen umkristallisierten. Frisch sublimierte authentische Veratrumsäure hatte dieselbe Kristallform, schmolz genau gleich und zeigte beim Erhitzen dieselbe Umwandlung. Auch das Gemisch der beiden Säuren zeigte denselben Schmelzpunkt und dieselbe charakteristische Umwandlung der Kristallform.

Die Möglichkeit, daß es sich bei der untersuchten Säure einfach um eine verunreinigte Protokatechusäure (Schmelzpunkt 206—207° korr.) handle, wurde durch einen Mischschmelzpunkt mit authentischer Protokatechusäure (164—205° korr.) ausgeschlossen, ferner durch die oben erwähnte Tatsache, daß mit Diazomethan direkt *keine* Veratrumsäure entsteht.

In Anlehnung an *Gorter* (95) versuchte ich ferner eine Spaltung in Kaffeesäure (V) und Chinasäure (VI).

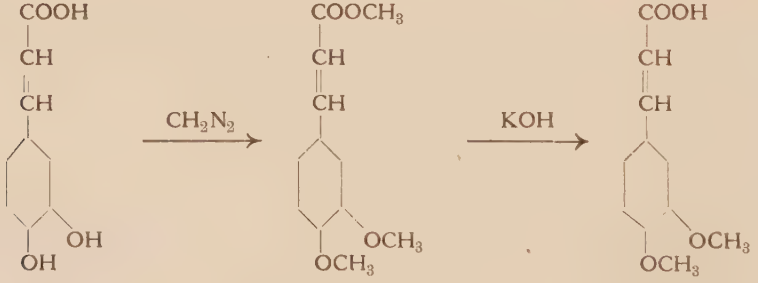


V VI

In Anbetracht der außerordentlich kleinen Substanzmengen wurde von vornherein auf die Isolierung der nur schwer kristallisierbaren Chinasäure verzichtet. Kaffeesäure konnte kristallisiert erhalten werden, nur zersetzt sie sich sehr leicht und hat infolgedessen keinen charakteristischen Schmelzpunkt (98).

Ich versuchte deshalb, sie in ein gut kristallisierbares, scharf schmelzendes Derivat überzuführen.

In Vorversuchen mit Kaffeesäure aus chlorogensaurem Kalium-Koffein [18]), das mir in größerer Menge zur Verfügung stand, methylierte ich zunächst die Kaffeesäure mit Diazomethan zu Dimethoxy-zimtsäure-methylester (VII),

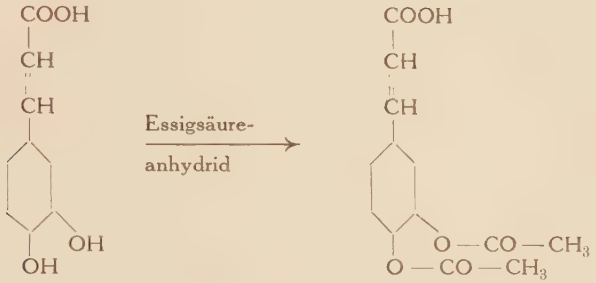


VII VIII

[18]) Chlorogensaures Kalium-Koffein sowie Protocatechusäure und Veratrumsäure stellte mir Herr Prof. Dr. *T. Reichstein* in freundlicher Weise zur Verfügung.

und, da dieser sich auch durch Sublimation im Hochvakuum nicht restlos reinigen läßt, verseifte ich ihn durch Kochen mit Kalilauge zu Dimethoxy-zimtsäure (VIII). Durch Umkristallisieren aus Wasser erhielt ich farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 179—182° korr. (180—184° [99]). Die Ausbeute war nicht gut.

Im zweiten Vorversuch führte ich die Kaffeesäure durch Kochen mit Essigsäureanhydrid (100) in das Diazetylderivat (IX) über, das durch Sublimation im Hochvakuum in farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 207—209° korr. (191—192° [100]) erhalten wurde. Die Ausbeute war gut; ich wählte deshalb für die aus Baldrian isolierte Säure diesen Weg und erhielt hier farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 208—211° korr.



IX

Ein Gemisch der beiden Diazetylderivate schmolz bei 206—211° korr. Es ist somit auch Kaffeesäure als Spaltprodukt nachgewiesen.

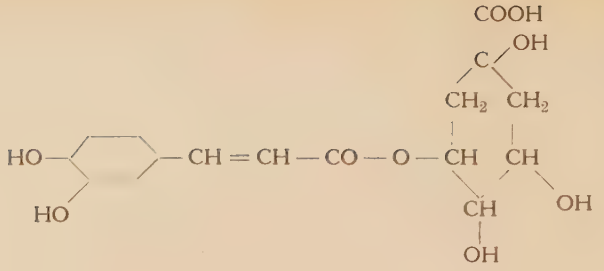
Inzwischen war es mir gelungen, die gesuchte Substanz durch Umkristallisieren aus Wasser ganz rein zu erhalten. Ich stellte deshalb zum Vergleich authentische Chlorogensäure aus chlorogensaurem Kalium-Koffein [19]) in der von *Gorter* (94) beschriebenen Weise dar und erhielt sie aus Wasser in Prismen vom Schmelzpunkt 218—220° korr.

Der Mischschmelzpunkt mit der aus Baldrian isolierten Säure (219—221° korr.) ergab keine Depression: 218—221° korr. Um ganz sicher zu gehen, stellte ich von beiden Säuren noch ein Azetyl-Derivat her und bestimmte wieder den Mischschmelzpunkt.

Die Azetylierung mit Pyridin und Essigsäureanhydrid bei 60° ergab ein Produkt, das nur schwer zur Kristallisation gebracht werden konnte und unscharf schmolz.

Bei der Azetylierung der authentischen Chlorogensäure nach *Gorter* (96) mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure erhielt ich nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol Nadeln vom Schmelzpunkt 186—189° korr., während dieselbe Azetylierungsmethode bei der aus Baldrian isolierten Säure ein Produkt ergab, das aus Benzol in Nadeln vom Schmelzpunkt 184—187° korr. kristallisierte. Ein Mischschmelzpunkt der beiden zeigte keine Depression. Damit war einwandfrei bewiesen, daß die beiden Säuren identisch sind, somit also die aus Baldrian isolierte «Kaffeegerbsäure ähnliche Baldriangerbsäure» Chlorogensäure ist.

[19]) Chlorogensaures Kalium-Koffein sowie Protocatechusäure und Veratrumsäure stellte mir Herr Prof. Dr. *T. Reichstein* in freundlicher Weise zur Verfügung.



Chlorogensäure nach *H. O. L. Fischer* (97).

Experimentelles.

1. Isolierung der reinen Substanz.

1 kg Tinctura Valerianae Ph. H. V wurde mit 1 kg frisch destilliertem Wasser versetzt und in einem Wasserbad von 50° im Vakuum auf 1 kg eingeengt. Die trübe Lösung wurde sechsmal mit je 250 cm^3 frisch destilliertem Aether ausgeschüttelt und die nun klare braune wässerige Lösung mit der Lösung von 37 g Bleiazetat ($Pb[CH_3COO]_2 . 3H_2O$) in wenig Wasser versetzt. Der flockige graugrüne Niederschlag wurde abzentrifugiert, zweimal mit Wasser gewaschen, dann in wenig frisch destilliertem Wasser aufgeschwemmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Nach dem Absitzen wurde vom Bleisulfid-Niederschlag durch ein mit etwas Kohle gedichtetes Filter abgenutscht und der Rückstand zweimal mit 20 cm^3 frisch destilliertem Wasser gewaschen. Das klare Filtrat wurde im Vakuum bei 50° Badtemperatur auf ein kleines Volumen eingeengt, von ausgeschiedenen Flocken abfiltriert und zur Trockne verdampft. Der Rückstand wog 1,5 g. Dieses Rohprodukt, ein gelber Sirup, wurde in ca. 1 cm^3 Methanol gelöst, mit ca. 1 cm^3 Essigester verdünnt, mit 20 cm^3 Aether gefällt und nach einigem Stehen die klare ätherische Lösung abdekantiert. Der Rückstand wurde noch fünfmal mit je 1 cm^3 Essigester ausgekocht und wieder mit viel Aether versetzt. Die klaren Aetherlösungen wurden vereinigt, auf 2 cm^3 eingeengt und der Rückstand, ein dünner hellgelber Sirup, mehrere Tage im Exsikkator über Natronkalk stehen gelassen. Daraus kristallisierten langsam farblose Prismen vom Schmelzpunkt 211—214° korr., die zur Reinigung mit etwas Essigester und Aether gewaschen wurden. Durch Umkristallisieren aus wenig Wasser stieg der Schmelzpunkt auf 219—221° korr. Aus den Mutterlaugen wurden noch weitere kristalline, aber weniger reine Fraktionen gewonnen.

2. Abbau der aus Baldrian isolierten Säure zu Veratrumsäure.

50 mg einer weniger reinen Fraktion wurden in wenig Methanol gelöst und mit soviel ätherischem Diazomethan versetzt, daß die Lösung nach drei Stunden noch gelb war. Es wurde von geringen Verunreinigungen filtriert, mit wenig Aether nachgewaschen und im Vakuum eingedampft. Zurück bleiben 52 mg eines unangenehm riechenden gelben Oels. Dieses wurde in 5 cm^3 Methanol gelöst und mit 50 mg Kalilauge während einer Stunde unter Rückfluß auf dem Wasserbad ge-

kocht. Nach Zusatz von 2 cm^3 Wasser wurde das Methanol im Vakuum abgedampft, die wässerige Lösung mit drei Tropfen konz. Schwefelsäure angesäuert und dreimal mit 2 cm^3 Aether ausgeschüttelt, hierauf der Aether über Natriumsulfat getrocknet und abgedampft. Die erhaltene gelbliche kristalline Masse wurde aus Aether-Pentan umkristallisiert und schmolz bei 176—181° korr.

Kristalle und Mutterlauge wurden in wenig Natronlauge gelöst und mit wässeriger Kaliumpermanganat-Lösung auf dem Wasserbad versetzt, bis ein Tropfen der Lösung nach fünf Minuten noch einen roten Auslauf auf Filtrierpapier zeigte. Dazu wurden 6,7 cm^3 einer 5proz. Kaliumpermanganat-Lösung verbraucht. Es wurde noch eine Viertelstunde weiter erwärmt, vom Braunstein abfiltriert und das mit einigen Tropfen konz. Salzsäure auf Kongo angesäuerte Filtrat ausgeäthert. Die ätherische Lösung wurde eingedampft. Das so erhaltene gelbe Rohprodukt hatte einen Schmelzpunkt von 100—165°. Zur Reinigung wurde es in Aether aufgenommen, zweimal mit 2 cm^3 konz. Soda-Lösung und mit 1 cm^3 Wasser ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden angesäuert und wieder ausgeäthert. Aus den eingedampften Aether-Auszügen wurden gelbliche Würfelchen erhalten, die bei 135—167° schmolzen. Die Säure wurde zur weiteren Reinigung im Vakuum bei 125—135° sublimiert; das Sublimat bestand nach dem Waschen mit wenig Aether aus fast farblosen Würfelchen vom Schmelzpunkt 140—172°. Das Produkt wurde aus Aether-Pentan umkristallisiert und ca. 5 mg farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 183—185° korr. erhalten, die sich von ca. 140° an in große Prismen umsublimierten. Die Mischprobe mit authentischer Veratrumsäure zeigte keine Depression.

3. Abbau der aus Baldrian isolierten Säure zu Diazetyl-Kaffeesäure.

a) Vorversuch mit Chlorogensäure aus Kaffee.

0,5 g chlorogensaures Kalium-Koffein wurde während fünf Minuten mit 8 cm^3 Natronlauge (normal) gekocht, mit konz. Salzsäure stark angesäuert, worauf die Kaffeesäure zum größten Teil auskristallisierte. Es wurde davon abgesaugt und die Kristalle mit wenig Eiswasser gewaschen. Ich erhielt so nach dem Trocknen 125 mg (ca. 85 % der theoretischen Ausbeute) gelbliche Nadeln vom Schmelzpunkt 219—227° korr. Die Mutterlauge wurde zweimal mit je 10 cm^3 Essigester ausgeschüttelt, die Essigester-Auszüge zweimal mit je 1 cm^3 Wasser gewaschen und zur Trockne verdampft. Aus dem Rückstand konnten durch Umkristallisieren aus Wasser weitere 10 mg Kaffeesäure vom Schmelzpunkt 222—228° korr. gewonnen werden.

50 mg dieser Kaffeesäure wurden nach *Gorter* (100) mit 1 cm^3 Essigsäureanhydrid während einer Stunde unter Rückfluß im Paraffinbad auf 140—150° erhitzt, dann mit 2,5 cm^3 kochendem Wasser gut durchgeschüttelt. Von der abgeschiedenen braunschwarzen Schmiere wurde abfiltriert, das Filtrat eingeengt und durch langsames Abkühlen die Diazetylkaffeesäure auskristallisiert. Das Rohprodukt, gelbliche Prismen, schmolz bei 203—208° korr. (*Gorter* 191—192°). Durch Sublimation im Hochvakuum bei 210—215° und 0,06 mm Hg konnten farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 207—209° korr. erhalten werden.

b) Versuch mit der Säure aus Baldrian.

In gleicher Weise wurden ca. 10 mg stark verunreinigte, zur Trockne eingedampfte Mutterlauge der aus Baldrian isolierten Säure zu Kaffeesäure abgebaut

und in deren Diazetylester übergeführt. Das Azetylierungsprodukt, eine schwarze Schmiere, wurde zur Trockne eingedampft und direkt im Hochvakuum bei 160—190° und 0,01 mm Hg sublimiert. Aus dem hellgelben Sublimat kristallisierten aus Aether farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 208—211° korr. Die Mischprobe ergab keine Erniedrigung des Schmelzpunktes (206—211° korr.).

4. Azetylierung der Chlorogensäure.

a) mit Pyridin und Essigsäureanhydrid.

50 mg Chlorogensäure (aus chlorogensaurem Kalium-Koffein) wurden zur Entfernung der letzten Wasserspuren mit 2 cm^3 Toluol abgedampft, durch leichtes Erwärmen in 1,2 cm^3 Pyridin gelöst und nach Zusatz von 1 cm^3 Essigsäureanhydrid in einem kleinen Präparatengläschen im Vakuum eingeschmolzen. Dieses Gemisch wurde über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann während vier Stunden in einem Wasserbad von 60° erwärmt. Nach Zufügen von sechs Tropfen Wasser wurde es noch während einer Stunde bei 50° gehalten. Es wurde im Vakuum zum Sirup eingedampft, durch zweimaligen Zusatz von je zwei Tropfen Wasser und wiederholtes Abdampfen möglichst vom Pyridin befreit. Der Rückstand wurde in Aether aufgenommen, die ätherische Lösung zuerst mit verdünnter Salzsäure und Wasser, dann mit verdünnter Sodalösung ausgeschüttelt. Die Soda-Auszüge wurden nach dem Ansäuern wieder ausgeäthert. Daraus gelang es, nach vergeblichen Versuchen mit verschiedenen Lösungsmitteln schließlich aus einem Alkohol-Wasser-Gemisch kleine Prismen vom Schmelzpunkt 134—140° korr. zu erhalten; die Ausbeute war schlecht.

b) Azetylierung mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure nach Gorter.

50 mg Chlorogensäure (aus chlorogensaurem Kalium-Koffein) wurden in 0,25 cm^3 eines Gemisches von 1 Tropfen konz. Schwefelsäure und 1,67 cm^3 Essigsäureanhydrid gelöst und zwei Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann mit 5 cm^3 Wasser versetzt und kräftig geschüttelt. Es fiel eine amorphe Masse aus, die abgenutscht und getrocknet wurde. Durch Umkristallisation aus Benzol wurden Nadelrosetten vom Schmelzpunkt 186—189° korr. erhalten. Aus Alkohol-Wasser kristallisierten ebenfalls Nadelrosetten aus, die bei 158—162° korr. zum ersten Mal und nach teilweiser Wiedererstarrung bei 187—188° korr. endgültig schmolzen.

In entsprechender Weise wurden aus 10 mg der aus Baldrian isolierten Chlorogensäure ca. 8 mg Azetylverbindung vom Schmelzpunkt 184—187° korr. (aus Benzol umkristallisiert) erhalten.

Ein Mischschmelzpunkt der beiden zeigte keine nennenswerte Depression (181—184° korr.), die lediglich vom starken Verreiben beim Mischen der beiden Substanzen herrührte; denn beide Azetylderivate zeigten auch einzeln stark verrieben einen etwas niedrigeren Schmelzpunkt (183—185° statt 186—189° korr. und 183—184° statt 184—187° korr.).

5. Darstellung von Chlorogensäure aus chlorogensaurem Kalium-Koffein.

0,5 g chlorogensaures Kalium-Koffein wurden in 6 cm^3 kochendem Wasser gelöst, mit 1 cm^3 Wasser in einen kleinen Scheidetrichter gespült und zur Entfernung des Koffeins 35 mal mit je 1 cm^3 Chloroform ausgeschüttelt. Zur Kontrolle

wurde jeder fünfte Chloroform-Auszug auf dem Wasserbad eingedampft; der letzte hinterließ nur noch einen minimen Rückstand. Durch Ausschütteln mit 4 cm^3 Aether wurde das restliche Chloroform aus der wässerigen Lösung entfernt, diese im Vakuum auf 2 cm^3 eingeengt und mit 0.09 cm^3 25proz. Schwefelsäure auf Kongo angesäuert. Durch Stehenlassen über Nacht bei 0° kristallisierte ein großer Teil der Chlorogensäure in kleinen Drusen aus. Diese wurden abgenutscht, mit einigen Tropfen Eiswasser gewaschen und aus wenig Wasser umkristallisiert. Nach dem Trocknen wurden so 165 mg farblose Prismen vom Schmelzpunkt 218—220° korr. erhalten. Die Mutterlauge wurde auf 2 cm^3 eingeengt und mit dem gleichen Volumen Alkohol versetzt; nach dem Abnutschen vom ausgeschiedenen Kaliumsulfat wurde der Alkohol im Vakuum vertrieben und die restliche Chlorogensäure bei 0° auskristallisieren gelassen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Chlorogensäure wird aus wässeriger und alkoholischer Lösung an Aluminiumoxyd leicht adsorbiert und ergibt im Chromatogramm eine sehr fest haftende gelbe Zone, die auch durch intensives Waschen nicht abgelöst wird und im ultravioletten Licht stark fluoresziert.

Verschiedene handelsübliche Baldriantinkturen, aber nicht alle, gaben bei der chromatographischen Untersuchung eine solche Zone.

Es ließ sich zeigen, daß in solchen Tinkturen tatsächlich Chlorogensäure enthalten ist, die sich in reinem kristallisiertem Zustand gewinnen ließ.

Der Nachweis, daß es sich wirklich um Chlorogensäure handelt, wurde durch direkten Vergleich der freien Säure sowie ihres Azetyl-Derivates erbracht, ferner durch Abbau zu Kaffeesäure und zu Veratrumsäure.

Zusammenfassung.

Es wurde versucht, mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse einen Beitrag zur Lösung verschiedener pharmazeutischer Probleme zu leisten.

1. Chromatogramme von Filix-Extrakten, hergestellt nach den verschiedenen Vorschriften der Ph. H. IV und Ph. H. V, ließen sich nicht vergleichen, hingegen waren die Chromatogramme eines Extraktes nach Ph. H. V und des Filmarons identisch. Dabei stellte sich heraus, daß Filmaron, entgegen den Behauptungen des Erfinders, nicht einheitlich ist.

2. Aether ließ sich unter gewissen Bedingungen beim Durchsaugen durch eine Aluminiumoxyd-Säule von seinem Gehalt an Peroxyd befreien.

3. Mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse konnte der Unterschied zwischen zwei Roßkastanien-Extrakten des Handels dahin aufgeklärt werden, daß im einen die Extraktstoffe der Samenschale fehlten.

4. Die chromatographische Adsorptionsanalyse konnte als wertvolles Hilfsmittel zur Aufdeckung von Verfälschungen in Drogen und galenischen Zubereitungen herangezogen werden.
   a) Es wurden die Chromatogramme von verschiedenen echten und verfälschten Johannisöl-Proben angegeben.
   b) Echte und mannigfach verfälschte Safran-Proben wurden chromatographiert und zum Vergleich mikroskopisch untersucht.

5. Aus Baldriantinktur wurde zuerst mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse, dann mit besserer Ausbeute als Bleisalz eine Säure isoliert, die durch Darstellung eines Azetylderivates und durch stufenweisen Abbau zu Veratrumsäure und zu Diazetylkaffeesäure als Chlorogensäure identifiziert werden konnte.

Literatur.

1) *Katz*, Archiv der Pharmacie *236*, 655 (1898).
2) *E. Poullsson*, Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. *35*, 97 (1895); *41*, 246 (1898).
3) *R. Boehm*, Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. *38*, 35 (1897); A. *302*, 171 (1898); *307*, 250 (1899); *318*, 230 (1901).
4) *Jaquet*, Therapeut. Monatsh. *1904*.
5) *F. Kraft*, Pharm. Zeitg. *27*, 275 (1903); Schw. Wochenschrift f. Chem. u. Pharmaz. *28*, 322 (1902); Archiv der Pharmacie *242*, 489 (1904).
6) *Hausmann*, Archiv der Pharmacie *237*, 544 (1899).
7) *P. Karrer*, Helv. chim. acta *2*, 466 (1919); *3*, 392 (1920); vgl. *Robertson* und *Sandrock*, J. Chem. Soc. London *1933*, 819.
8) *R. Brieger*, in *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse Bd. IV, 1, 832 (1932).
9) *E. Rath*, Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. *141*, 129—141 (1929).
10) *S. Yagi*, Zschr. ges. exp. Medizin *3*, 64 (1914).
11) *Wasicky*, Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. *97*, 454 (1923); *103*, 313 (1924); Schweiz. Apotheker-Zeitung *62*, 601, 613 (1924).
12) *Z. Csipke*, Ber. Ungar. Pharmaz. Ges. *5*, 425, 457 (1929); *6*, 85 (1930).
13) *Führer*, Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden, herausgegeben von *Abderhalden*, Abt. IV, Teil *7*, 462.
14) *W. Straub*, Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. *48*, 30 (1902).
15) *Kofler* und *Müller*, Archiv der Pharmacie *268*, 644 (1930).
16) *J. Pill*, Pharmacia *1932*, 29, 64, 104.
17) *J. Stamm*, Pharmacia *1931*, 429.
18) *J. Stamm* und *Willner*, Pharmacia *1934*, 169.
19) *J. Maizits*, Latvijas Farmaceitu Žurnals *1924* (20. XII.)
20) *J. Stamm*, Pharmacia *1934*, 271.
21) *Jodlbauer*, Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. *164*, 457 (1932).
22) *Seiler*, Schweiz. Aerzte-Zeitung 1936, 235; R. A. A. *1937*, 16.
23) *Thoms*, Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie, 413.
24) *Gehe's* Codex *1933*, 393.
25) DAB. 6, 80.
26) *Lebeau-Courtois*, Traité de Pharmacie chimique, II, 126.
27) *Klemperer* und *Rost*, Arzneiverordnungslehre *1929*, 388—90.
28) *Zörnig*, Arzneidrogen, I, 515 (1909).
29) *Hager*, Handbuch der pharmazeutischen Praxis, I, 1300 (1925).
30) *H. A. Boekenoogen*, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas *56*, 351 (1937).
31) *Zechmeister* und *v. Cholnoky*, Chromatographische Adsorptionsanalyse *1937*, 7.
32) *Robertson* und *Sandrock*, J. Chem. Soc. London *1933*, 1617.
33) *Killinen*, C. *1933*, II, 3453.
34) *Pabst* und *Bliß*, J. Amer. pharm. Ass. *21*, 431 (1932); *22*, 289 (1933).
35) *G. Pennetti* (C, *1927*, I, 1855), Arch. internat. pharmacodyn. et thér. *31*, 395 (1926).
36) *Fumarola*, C, *1927*, I, 1707.
37) *Zechmeister* und *v. Cholnoky*, Chromatographische Adsorptionsanalyse *1937*.
38) *A. Winterstein*, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden von *E. Abderhalden*, Abt. V, Teil 10, 1393—1473 (1938).
39) *Valentin*, Pharm. Ztg. *80*, 469 (1935).
40) *Valentin* und *Franck*, Pharm. Ztg. *81*, 943 (1936).
41) *Franck*, Archiv der Pharmacie *275*, 125 (1937).
42) *Merz* und *Franck*, Archiv der Pharmacie *275*, 345 (1937).
43) *Valentin*, Pharm. Ztg. *82*, 527 (1937).

44) *Ernst* und *Weiner*, Scientia pharm. *8*, 45 (1937).
45) *M. Tswett*, Ber. Deutsch. Botan. Ges. *24*, 384 (1906).
46) *Ruggli* und *Jensen*, Helv. chim. acta *18*, 624 (1935).
47) *Rieche* und *Meister*, Angew. Chemie *49*, 101 (1936).
48) *Siegfried*, Zur Einführung in die Pharmakopoea, Editio quinta 17.
49) *Berger*, Pharm. Zentralhalle *77*, 389 (1936).
50) *Mahal*, C, *1938*, I, 1397.
51) *Rordorf*, Schweiz. Apotheker-Ztg. *1924*, 98.
52) Ph.H.V, 340.
53) *Neugebauer* und *Brunner*, Pharm. Zentralhalle *79*, 161 (1938).
54) *Aurelius, Herlong* und *Nitardy*, J. Amer. Pharm. Ass. *26*, 45 (1937).
55) Schweiz. Apotheker-Ztg. *1938*, 253.
56) *Seiler*, Schweiz. Apotheker-Ztg. *1925*, 257.
57) Ph.H.V, 81—84.
58) *Tschirch*, Handbuch der Pharmokognosie, 3. Band, 1. Teil, 14—16 (1923).
59) *Valentin*, Pharm. Zentralhalle *79*, 409 (1938).
60) *Wehmer*, Pflanzenstoffe 725.
61) *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III, 412, 935, 1112, 1124.
62) *Rohberg*, Pharm. ZH. *79*, 325, 347 (1938).
63) Ph. H. V, 976.
64) *Peyer*, Dtsch. Apoth.-Ztg. *52*, 932 (1937).
65) *Ströhlin*, Süddtsch. Apoth.-Ztg. *76*, 862 (1936).
66) *Lang*, SAZ. *70*, 521 (1932).
67) *Jerzmanowska*, C. *1938*, I, 333.
68) *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III, 1455.
69) *Meyer-Jacobson*, Lehrbuch der organischen Chemie, Bd. II, Teil V, 1. Abt. 216.
70) *Cerny*, H *73*, 371 (1911).
71) *Siersch*, Planta *3*, 481 (1927).
72) *P. Karrer*, in *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III, 941.
73) *Reber*, Pharm. Helv. Act. *9*, 1 (1934).
74) *Sonntag*, Dtsch. Apoth.-Ztg. *50*, 399 (1935).
75) *Brockmann*, A. *521* 1 (1935).
76) *Horsley* C. *1934*, II, 1949.
77) *Chika Kuroda* und *Mizu Wada*, C. *1937*, I, 3156.
78) *Thaler*, Fette und Seifen, *44*, 38 (1937).
79) *Hager* (1925), Bd. I, 1506.
80) *Wolff*, Pharm. ZH., *36*, 193 (1895).
81) *P. Karrer* und Mitarbeiter, Helv. *10*, 5, 67, 71, 748 (1927); *11*, 837 (1928); *12*, 292 (1929); *15*, 1212 (1932); *19*, 25, 1025 (1936).
82) *Franck*, Arch. *275*, 141 (1937).
83) *Zörnig*, Arzneidrogen II, 149 (1911).
84) *Zörnig*, Arzneidrogen I, 320 (1911).
85) *Zörnig*, Arzneidrogen II, 496 (1911).
86) *Zörnig*, Arzneidrogen II, 152 (1911).
87) *Wasicky*, Pharm. Post, *45*, 461 (1912).
88) *Hegi*, Flora von Mitteleuropa, Bd. VI, 920.
89) *Czyrnianski A.*, *71*, 21 (1849).
90) *Wehmer*, Pflanzenstoffe, Bd. II, 1191 (1931).
91) *Gorter*, Arch. *247*, 184, 436 (1909).
92) *Freudenberg* in *Klein*, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III, 367.
93) *Rosenthaler*, Chemische Analyse, 383 (1914).
94) *Gorter*, A. *358*, 340 (1907).
95) *Gorter*, A. *359*, 217 (1908).
96) *Gorter*, A. *359*, 225 (1908).
97) *Fischer*, Ber. *65*, 1037 (1932).
98) Ber. *40*, 3494, Anm. 3 (1907).
99) Ber. *11*, 652 (1878).
100) *Gorter*, A. *359*, 219 (1908).

Curriculum vitae.

Als Tochter des Chemieprofessors Dr. Fr. Fichter und seiner Gattin Marie Louise, geb. Bernoulli, wurde ich, Marguerite Sophie Helene Fichter, am 30. Juni 1911 in meiner Vaterstadt Basel geboren. Hier trat ich 1918 in die Primarschule und 1922 in das Mädchengymnasium ein, das ich 1931 mit dem Maturitätszeugnis (Typus B) verließ. Nach dreisemestrigem Studium in der hiesigen Universität bestand ich im Herbst 1932 das pharmazeutische Vorexamen, absolvierte vom 1. Oktober 1932 bis zum 31. März 1934 in der Apotheke des waadtländischen Kantonsspitals ein Praktikum, welches ich in Lausanne mit dem pharmazeutischen Assistentenexamen abschloß. Im Sommersemester 1934 kehrte ich an die Universität Basel zurück und bestand hier im März 1937 das pharmazeutische Staatsexamen, nachdem ich das Studium krankheitshalber während mehreren Semestern unterbrochen hatte. Vom April bis Dezember 1937 beschäftigte ich mich mit pharmakognostisch-botanischen Arbeiten und begann im Januar 1938 unter Anregung und Leitung von Herrn Prof. Dr. Hans Erlenmeyer meine vorliegende Dissertation; nach dem Umbau der pharmazeutischen Anstalt übernahm im Januar 1939 Herr Prof. Dr. T. Reichstein die Leitung meiner Arbeit, welche im Mai 1939 abgeschlossen wurde.

Im Verlaufe meiner Studien besuchte ich Vorlesungen und Praktika bei den Herren Proff. DDr.: Barth, Doerr, Edlbacher, Erlenmeyer, Fichter, Fischer, Geiger, Häberlin, Hagenbach, Hunziker, Janner, Jezler, Leupin, Portmann, Reichstein, Rupe, Schüepp, Senn, Staub, Veillon, Viollier, Vischer, West und Zörnig.